

TESIS

**APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans*
TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi***



Oleh :

MILA AYU AMBARSARI

NIM. 091624153007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans*
TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi***



Oleh :

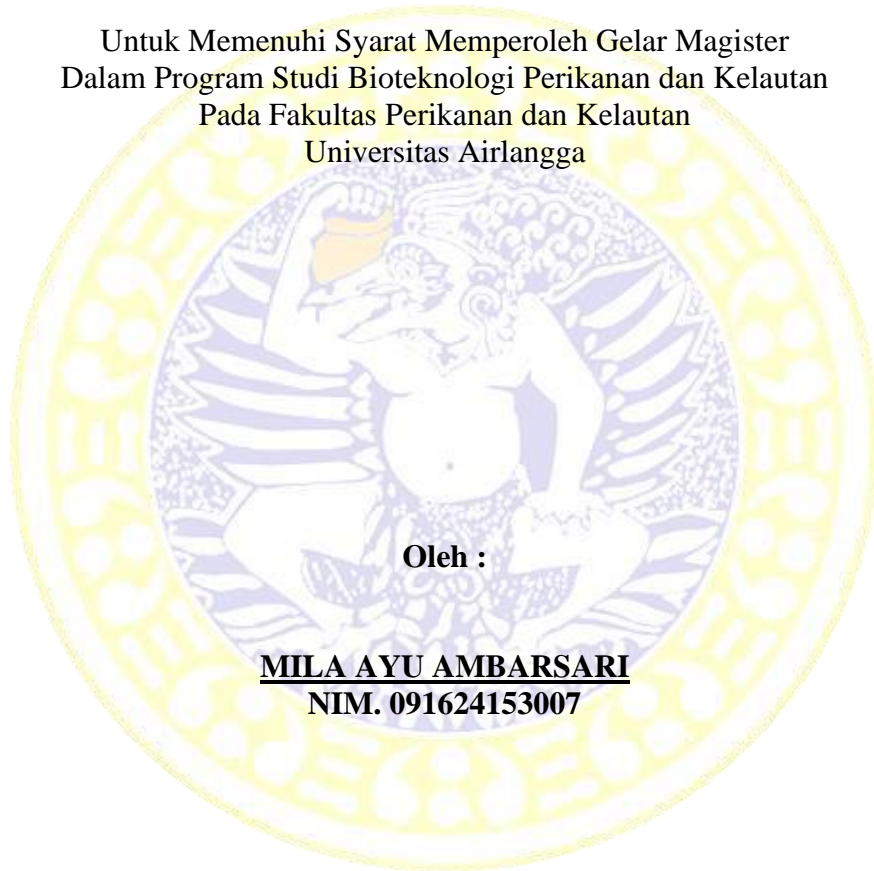
MILA AYU AMBARSARI
NIM. 091624153007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans*
TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi***

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
Pada Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga



Oleh :

MILA AYU AMBARSARI
NIM. 091624153007

**PROGRAM STUDI MAGISTER
BIOTEKNOLOGI PERIKANAN DAN KELAUTAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans*
TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi***

**Sebagai Syarat untuk Memperoleh Gelar Magister
Sebagai Syarat Program Studi Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
Pada Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga**

Oleh :
MILA AYU AMBARSARI
NIM. 091624153007

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Ketua,

Pembimbing Serta



Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si
NIP. 19620803 198710 1 001



Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA
NIP. 19610907 198903 2 001

TESIS

**APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans*
TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME
(*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi***

Oleh :

**Mila Ayu Ambarsari
NIM. 091624153007**

**Telah diuji pada
Tanggal : 6 Agustus 2019**

KOMISI PENGUJI TESIS

Pembimbing Ketua : Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si
Pembimbing Serta : Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA
Anggota : 1. Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr.
2. Dr. Akhmad Taufik Mukti, S.Pi., M.Si
3. Prof. Dr. Dewa Ketut Meles., Drh., MS

**Surabaya, 29 Januari 2020
Fakultas Perikanan dan Kelautan
Universitas Airlangga
Dekan,**


**Prof. Dr. Mirni Lamid. MP., drh
NIP. 196201161992032001**

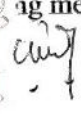

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mila Ayu Ambarsari
NIM : 091624153007
Prodi : Bioteknologi Perikanan dan Kelautan
Tempat, tanggal lahir : Surabaya, 01 Agustus 1988
Alamat : JL. Bulak Banteng Baru Gang Mawar No. 23 Surabaya
Judul Tesis : Aplikasi Probiotik dan Mikroalga *Chaetoceros calcitrans*
Terhadap Respon Imun Non Spesifik Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)
Setelah Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*
Pembimbing : 1. Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si
2. Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa hasil tulisan laporan tesis yang saya buat adalah murni hasil karya sendiri (bukan plagiat) yang berasal dari Dana penelitian : Mandiri / Proyek Dosen / ~~Hibah / PKM~~ (coret yang tidak perlu). Di dalam Tesis / karya tulis ini tidak terdapat keseluruhan atau sebagian tulisan atau gagasan orang lain yang saya ambil dengan cara menyalin atau meniru dalam bentuk rangkaian kalimat atau simbol yang saya aku seolah – olah sebagai tulisan saya sendiri tanpa memberikan pengakuan pada penulis aslinya, serta kami bersedia :

1. Dipublikasikan dalam Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga;
2. Memberikan Ijin untuk mengganti susunan penulis pada hasil tulisan tesis / karya tulis saya ini sesuai dengan peran prmbimbing tesis;
3. Diberikan sanksi akademik yang berlaku di Universitas Airlangga, termasuk pencabutan gelar magister sains yang telah saya peroleh apabila dikemudian hari terbukti bahwa saya ternyata melakukan tindakan menyalin atau meniru tulisan orang lain yang seolah – olah hasil pemikiran saya sendiri.

Demikian surat pernyataan yang saya buat ini tanpa ada unsur paksaan dari siapapun dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Januari 2020
Saya membuat pernyataan,


Mila Ayu Ambarsari
NIM. 091624153007

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkat rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis tentang “Aplikasi Probiotik dan Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* Terhadap Respon Imun Non Spesifik Pada Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) Setelah Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*”. Tesis ini disusun dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh Gelar Magister Sains pada Program Studi S-2 Bioteknologi Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari bahwa Tesis ini masih belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan dan kesempurnaan Tesis ini. Akhirnya penulis berharap semoga Tesis ini dapat memberikan manfaat dan informasi bagi semua pihak, khususnya bagi mahasiswa Program Studi S-2 Bioteknologi Perikanan dan Kelautan demi kemajuan dan perkembangan teknologi dalam bidang perikanan.

Surabaya, 28 Januari 2020

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT., Tuhan Yang Maha Esa, yang dengan rahmat dan kasih sayang-Nya telah memberikan kemudahan dan kekuatan sehingga tesis yang berjudul “Aplikasi Probiotik dan Mikroalga *Chaetoceros calcitrans* Terhadap Respon Imun Non Spesifik Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Setelah Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*” ini dapat diselesaikan dengan baik.

Terima kasih yang sebesar – besarnya kami sampaikan kepada Ibu Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si selaku Pembimbing I, atas peran dan jasanya meluangkan waktu untuk memberikan ilmu serta arahan selama penyusunan. Terima kasih yang sebesar – besarnya juga kami sampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA selaku Pembimbing II, atas perannya memotivasi dan memberikan bimbingan selama penyusunan. Banyak pihak yang juga berperan dalam penyusunan tesis ini. Oleh karena itu, kami menyampaikan terima kasih sebesar – besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, Bapak Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., SMA, atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama menjalani pendidikan di Universitas Airlangga.
2. Dekan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga, Ibu Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P beserta jajarannya, atas kesempatan dan kemudahan yang diberikan dalam pelayanan akademik selama pendidikan.
3. Ibu Prof. Dr. Nunuk Dyah Retno Lastuti, drh., MS selaku Kepala Program Studi (KPS) dan Dosen Wali yang telah memberikan masukan serta saran proses akademik.

4. Bapak Prof. Dr. Hari Suprpto, Ir., M.Agr., Bapak Prof. Dr. Dewa Ketut Meles., Drh., MS dan Bapak Dr. Akhmad Taufiq Mukti, S.Pi., M.Si selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan, kritik dan saran atas penyempurnaan Tesis ini.
5. Keluarga kecil saya yaitu Suami Tercinta Bagus Rakhmat, Anak Tersayang Belia Belva Syakira yang yang setiap saat memanjatkan doa serta memberikan kasih sayang yang tak ternilai. Dan yang telah memberikan doa, kasih sayang dan dukungan sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis ini.
6. Bapak Sartono, Ibu Erna Hidayati, Adik Gani Hariani Trisnawati, Adik Garin Hariadi Sutrisna keluarga tersayang yang telah memberikan doa, kasih sayang dan dukungan sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis ini.
7. Partner tesis kesana kemari dan keluh kesah Jefri dan Kinta selama di Jepara.
8. Bapak Arief Taslihan selaku Pembimbing Lapangan di BBPBAP Jepara yang sudah memberikan arahan dan penjelasan dengan detail.
9. Bapak Supito selaku Team Teknis Budidaya Udang yang sudah mempermudah kebutuhan penelitian.
10. Bu Ita, Bu Zariyah selaku staff BBPBAP dari laboratorium Kesehatan Hewan Akuatik. Serta bapak/ibu di Laboraturium Kimia, di BBPBAP Jepara dan Kelautan dan di Balai Besar Laboraturium Kesehatan Surabaya.

11. Sahabat – sahabat di Program Studi Magister Bioteknologi Perikanan Dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga selama menjalani perkuliahan dan penyusunan tesis ini.
12. Seluruh dosen, staf Program Studi Magister Bioteknologi Perikanan Dan Kelautan Sekolah Pascasarjana dan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga yang telah membantu pelaksanaan dan penyelesaian Tesis ini.
13. Semua orang yang tidak bisa saya sebut satu-satu yang telah membantu proses penyelesaian tesis ini.

Akhir kata, penulis menyampaikan mohon maaf apabila terdapat kesalahan dalam penulisan tesis ini, Sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan tesis ini. Akhir kata semoga tesis ini dapat memberikan manfaat di dunia perikanan pda khususnya dan untuk ilmu pendidikan yang lebih luas pada umumnya demi perkembangan teknologi.

Surabaya, 28 Januari 2020

Penulis

RINGKASAN

MILA AYU AMBARSARI. APLIKASI PROBIOTIK DAN MIKROALGA *Chaetoceros calcitrans* TERHADAP RESPON IMUN NON SPESIFIK PADA UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) SETELAH INFEKSI BAKTERI *Vibrio Harveyi*. Dosen Pembimbing Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Si dan Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA.

Permintaan udang vaname di Indonesia yang semakin meningkat setiap tahunnya kini menyebabkan banyak pembudidaya membudidayakan udang vaname secara intensif. Hal tersebut dapat berpotensi menyebabkan berkembangnya penyakit. Penyakit yang sering menyerang yaitu penyakit vibriosis. Penyakit Vibriosis yang dapat menyebabkan kematian pada udang hingga mencapai 90 – 100% dari total populasi disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Tingkat kematian udang vaname yang diinfeksi *Vibrio harveyi* dengan dosis 10^6 cfu/mL mencapai 31,67%. Salah satu upaya dalam pencegahan penyakit udang adalah melalui peningkatan sistem pertahanan tubuh udang menggunakan imunostimulan. Probiotik yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, dan *Pseudomonas diminuta* dan mikroalga *Chaetoceros calcitrans*.

Udang tidak memiliki kekebalan spesifik (adaptive) sehingga sistem kekebalan non spesifik memegang peranan penting dalam sistem imun udang. Hemosit sebagai sistem imun pertama pada golongan krustasea, kemudian hemosit berlanjut dalam proses penyembuhan luka melalui aktivitas selular serta membawa dan melepaskan *prophenoloxidase system* (proPO). Selama aktivasi proPO menghasilkan PO, berbagai enzim terbentuk merangsang reaksi seperti fagositosis, pembentukan nodul. proPO diaktifkan oleh *prophenoloksidase activating enzyme* (PPA), sedangkan PPA ini bisa diaktifkan oleh *lipopolisakarida* seperti β -1,3 *glukan*. *Lipopolisakarida* atau peptidoglikan dari mikroorganisme melalui pola pengenalan protein. PPA merupakan protein yang berlokasi di granulosit. Akibat pengaktifan proPO menjadi PO maka dihasilkan protein faktor opsonin yang merangsang fagositosis hialosit. ProPO diaktifkan untuk membentuk PO dan dilepaskan dari hemosit ke plasma, yang menyebabkan sintesis melanin. Dalam proses ini, fenol berperan dalam konser dengan quinones, yang kemudian dipolimerisasi untuk membentuk melanin, pertahanan sel lainnya termasuk fagositosis, pembentukan nodul, enkapsulasi, anion superoksida dan radikal hidroksida.

Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui pengaruh pemberian probiotik dan mikroalga *Chaetoceros calcitrans* terhadap respon imun non spesifik pada udang vanname setelah infeksi bakteri *Vibrio harveyi*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 kali ulangan. Dosis untuk pemberian *Vibrio harveyi* mengacu pada penelitian awal LD50 yaitu 10^6 CFU/ml. Sedangkan Untuk Pemberian bakteri *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis*, dan *Bacillus mycoides*. Pemberian mikroalga *Chaetoceros calcitrans* sebanyak $67,50 \times 10^5$ sel/ml, satu hari pasca pemberian probiotik, mikroalga, probiotik dan mikroalga di media pemeliharaan udang (hari ke-15) disuntik dengan *Vibrio harveyi*. Pada penelitian ini udang dipelihara selama 14 hari. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini yaitu K⁻ : Pemeliharaan

udang tanpa pemberian probiotik maupun mikroalga *Chaetoceros calcitrans*, hari ke-15 diinjeksi PBS (*Phosphat Buffer Saline*). K⁺ : Pemeliharaan udang tanpa pemberian probiotik maupun mikroalga *Chaetoceros calcitrans*, dan pada hari ke - 15 diinfeksi *Vibrio harveyi*. PA : Pemeliharaan udang dengan pemberian Probiotik (Pro). PB : Pemeliharaan udang dengan pemberian Mikroalga (Mik). PC : Pemeliharaan udang dengan pemberian Probiotik dan Mikroalga (Promik).

Parameter yang diamati meliputi Total Hemosit Count (THC), aktivitas Fagositosis, aktivitas PO (*Phenoloxidase*), aktivitas SOD (*Superoxidase dismutase*). Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik dan mikroalga memberikan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap respon imun non spesifik pada udang vaname.

Pemberian Probiotik (Pro), Mikroalga (Mik) *Chaetoceros calcitrans* dan Kombinasi yaitu Probiotik dan Mikroalga (Promik) pada media pemeliharaan dapat meningkatkan respon imun non spesifik pada udang vanname setelah infeksi bakteri *Vibrio harveyi* dan kelangsunganhidup udang vaname. Pada pemberian Promik memberikan respon imun yang terbaik dengan menghasilkan peningkatan THC sebesar $42,86 \times 10^6$ sel/ml, aktivitas fagositosis (AF) sebesar 95,50%, aktivitas phenoloksidase (PO) sebesar 0,405, aktivitas enzim SOD sebesar 1,743Unit/sel.



SUMMARY

MILA AYU AMBARSARI. PROBIOTIC AND MICROALGA APPLICATIONS OF *Chaetoceros calcitrans* NON SPECIFIC RESPONSE ON WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) AFTER *Vibrio Harveyi* BACTERIA INFECTION. Supervisor Dr. Woro Hastuti Satyantini, Ir., M.Sc and Prof. Dr. Agoes Soegianto, DEA.

The demand for vaname shrimp in Indonesia which is increasing every year now causes many farmers to cultivate vaname shrimp intensively. This can potentially cause disease development. The disease that often attacks is vibriosis. Vibriosis disease that can cause death in shrimp up to 90-100% of the total population caused by *Vibrio harveyi* bacteria. The mortality rate of vaname shrimp infected by *Vibrio harveyi* at a dose of 10^6 cfu/mL reached 31.67%. One effort in preventing shrimp disease is through enhancing the body's defense system using shrimp immunostimulants. The probiotic used in this study consisted of the bacteria *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, and *Pseudomonas diminuta* and microalgae *Chaetoceros calcitrans*.

Shrimp do not have specific immunity (*adaptive*) so that the non-specific immune system plays an important role in the shrimp immune system. Hemocytes as the first immune system in the crustaceans, then hemocytes continue in the process of wound healing through cellular activity and carry and release the *prophenoloxidase system* (proPO). During the activation of proPO to produce PO, various enzymes are formed stimulating reactions such as *phagocytosis*, *nodule formation*. proPO is activated by *prophenoloxidase activating enzyme* (PPA), whereas PPA can be activated by *lipopolysaccharides* such as β -1,3 *glucan*. *Lipopolysaccharides* or *peptidoglycan* from microorganisms through protein recognition patterns. PPA is a protein located in granulocytes. As a result of activating proPO into PO, opsonin factor protein is produced which stimulates hygiocyte phagocytosis. ProPO is activated to form PO and is released from hemocytes into the plasma, which causes melanin synthesis. In this process, phenol plays a role in concert with quinones, which are then polymerized to form melanin, other cell defenses including phagocytosis, nodule formation, encapsulation, superoxide anions and hydroxide radicals.

The purpose of this study was to determine the effect of giving probiotics and microalgae *Chaetoceros calcitrans* to non-specific immune responses in vanname shrimp after *Vibrio harveyi* bacterial infection. This research is experimental with a *completely randomized design* (CRD) consisting of 5 treatments and 4 replications. The dosage for administration of *Vibrio harveyi* refers to the initial LD50 study of 10^6 CFU / ml. As for the administration of the bacteria *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*, and *Bacillus mycoides*. The administration of *Chaetoceros calcitrans* microalgae was 67.50×10^5 cells / ml, one day after administration of probiotics, microalgae, probiotics and microalgae in shrimp rearing media (day 15) injected with *Vibrio harveyi*. In this study shrimp were kept for 14 days. The treatment used in this study was K⁻: Rearing shrimp without the administration of probiotics or microalgae *Chaetoceros calcitrans*, the 15th day was injected with PBS (*Phosphate Buffer Saline*). K⁺: Rearing shrimp

without the provision of probiotics or microalgae *Chaetoceros calcitrans*, and on the 15th day infected with *Vibrio harveyi*. PA: Shrimp maintenance by providing Probiotics (Pro). PB: Shrimp maintenance by giving Microalgae (Mic). PC: Shrimp maintenance by providing Probiotics and Microalgae (Promik).

The parameters observed included Total Hemocyte Count (THC), Phagocytic activity, PO (*Phenoloxidase*) activity, SOD (*Superoxidase dismutase*) activity. Data analysis used *Analysis of Variance* (ANOVA) followed by Duncan's multiple range test (DMRT). The results of this study indicate that the administration of probiotics and microalgae gave significantly different results ($p < 0.05$) on non-specific immune responses in vaname shrimp.

Probiotics (Pro), Microalgae (Mik) *Chaetoceros calcitrans* and Combination Probiotics and Microalgae (Promik) on maintenance media can increase non-specific immune response in vanname shrimp after *Vibrio harveyi* bacterial infection and survival of vaname shrimp. In giving Promik the best immune response by producing an increase in THC of 42.86×10^6 cells/ml, phagocytosis (AF) activity of 95.50%, *phenoloxidase* (PO) activity of 0.405, SOD enzyme activity of 1.743 Units / cell.

